

日本国特許庁
PATENT OFFICE
JAPANESE GOVERNMENT

03.03.00

09/936045

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日
Date of Application:

1999年 3月 4日

REC'D 25 APR 2000

出願番号
Application Number:

平成11年特許願第056993号

出願人
Applicant(s):

セーレン株式会社

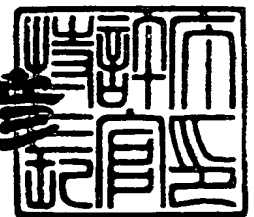
PRIORITY
DOCUMENT

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

2000年 4月 7日

特許庁長官
Commissioner,
Patent Office

近藤隆彦



出証番号 出証特2000-3023236

【書類名】 特許願

【整理番号】 P-F287

【提出日】 平成11年 3月 4日

【あて先】 特許庁長官 伊佐山 建志 殿

【発明の名称】 難消化性飲食品添加物及び健康補助剤

【請求項の数】 4

【発明者】

 【住所又は居所】 福井県福井市毛矢 1 丁目 1 0 番 1 号 セーレン株式会社
 内

 【氏名】 佐々木 真宏

【発明者】

 【住所又は居所】 福井県福井市毛矢 1 丁目 1 0 番 1 号 セーレン株式会社
 内

 【氏名】 山田 英幸

【発明者】

 【住所又は居所】 福井県福井市毛矢 1 丁目 1 0 番 1 号 セーレン株式会社
 内

 【氏名】 野村 正和

【特許出願人】

 【識別番号】 000107907

 【氏名又は名称】 セーレン株式会社

 【代表者】 川田 達男

【代理人】

 【識別番号】 100071755

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 斉藤 武彦

 【電話番号】 3582-7161

【選任した代理人】

 【識別番号】 100070530

【弁理士】

【氏名又は名称】 畑 泰之

【電話番号】 3582-7161

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 029067

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9724031

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 難消化性飲食品添加物及び健康補助剤

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 セリシン又は／及びその加水分解物からなることを特徴とする難消化性飲食品添加物。

【請求項 2】 セリシンが菌又は生糸から抽出した天然セリシンである請求項 1 記載の難消化性飲食品添加物。

【請求項 3】 セリシン及び／又はその加水分解物からなることを特徴とする健康補助剤。

【請求項 4】 セリシンが菌又は生糸から抽出した天然セリシンである請求項 3 記載の健康補助剤。

【発明の詳細な説明】

【0 0 0 1】

【発明の属する技術分野】

本発明は難消化性の飲食品添加物及び健康補助剤に関し、特にダイエット、便秘解消及びカルシウムの吸収促進効果をもつ飲食品添加物及び健康補助剤に関する。

【0 0 0 2】

【従来技術】

人の消化酵素で消化されない成分である食物繊維は、食生活の欧米化に伴い摂取量が年々減少している。しかしその一方で、その低カロリー性、血糖値の改善、便秘解消などの効果が見直されてきている。さらに近年の美容、健康への関心の高まりにより、実に様々な食物繊維を含んだ食品・飲料が提案、市販されている。

【0 0 0 3】

例えば特開平 7－3 1 3 1 2 0 号公報には、低分子化したコンニャクマンナンからなる食物繊維を含む飲料が提案されている。

その他にも特開平 5－1 9 9 8 4 9 号公報にはキノコ類から得られたもの、特開平 6－1 6 9 7 2 4 号公報には低分子ペクチン、特開平 2－3 0 3 4 6 8 号公

報にはアルギン酸類など、実に多数の食物繊維が提案されている。

【 0 0 0 4 】

現在飲食品用として使用されている多くは水溶性の食物繊維である。この種の食物繊維はゲル化しやすい性質を持ち、粘性が高いため、飲食物に添加するには低粘度化してやらねばならず、製造法が複雑になってしまう。また、摂取した場合には腹部に多量のガスが発生するなどの問題がある。

【 0 0 0 5 】

また、食物繊維は余分な糖やコレステロールなどを吸着し体外に排出するため、体に必要な栄養素まで排出してしまうおそれがある。日本人の摂取量が不足していると言われているカルシウムも例外ではなく、そのため、ミネラルやビタミンなどの栄養素をたくさんとることが必要となったり、特開平 9 - 1 7 2 9 8 1 号公報で提案されているように粗繊維によるカルシウム吸収阻害を改善するためにプロポリスを含有させることなどが必要となる。

【 0 0 0 6 】

【発明が解決しようとする課題】

本発明は上記課題を解決し、ダイエット効果・便秘解消に加えてカルシウム吸収促進作用を有する新規な難消化性飲食品添加物及び健康補助剤を提供することを目的とするものである。

【 0 0 0 7 】

【課題を解決するための手段】

本発明者等はセリシン及びその加水分解物が体内の消化酵素に対して消化性が低く、ダイエットや便秘解消に効果的であると共にカルシウムの吸収を促進するという特有の効果を持ち、それ自身の経口摂取により、又はそれを飲食品に添加して摂取することにより、優れたダイエット効果、便秘解消効果及びカルシウム吸収促進効果を得ることができることを見出し、本発明に到達した。

【 0 0 0 8 】

即ち、本発明はセリシン及び／又はその加水分解物からなる飲食品添加物及び健康補助剤である。

本発明において健康補助剤とは、飲食品に添加することなく、それ自身を直接

又は担体に担持した状態等で経口摂取して、上記したダイエット効果、便秘解消効果及び／又はカルシウム吸収促進効果を発現させるような使用態様をいう。

【0009】

本発明で用いるセリシンとしては通常、繭又は生糸由来のセリシンが好ましく用いられる。非加水分解物としてのセリシンは、繭又は生糸から一般的に行われる抽出方法で得ることができる。例えば以下のようにして純度90%以上の高精製度単一タンパク質の状態で抽出できる。

【0010】

即ち、繭又は生糸に含有されるセリシンを水によって抽出し、例えば次の（１）、（２）のいずれかの方法で回収する。

（１）メタノール、エタノール、ジオキサン等の水溶性有機溶媒を混合してセリシンを析出させた後、これを濾別乾燥して、セリシン粉体として得る。

（２）特開平4-202435号公報に提案されているように、限外濾過膜もしくは逆浸透膜に付した後、乾燥することによりセリシン粉体を得る。

【0011】

またセリシンの加水分解物は、繭又は生糸から一般的に行われる抽出方法で得ることができる。

即ち、繭又は生糸に含有されるセリシンを、電気分解した水や、酸、アルカリもしくは酵素などによって部分加水分解して抽出してから、例えば同様に上記（１）、（２）のいずれかの方法で回収する。

【0012】

繭はその良質なタンパク質が注目され、粉碎するなどして栄養源として食品に添加することが提案されているが、その繭タンパク質の一つであるセリシンが体内の消化酵素に対して消化性が低く、ダイエットや便秘解消に効果的であるということは全く知られていない。

【0013】

難消化性であるセリシンは、腸内の活動を活発化させ、便の大腸通過時間を短縮させる働きがあり、有害・有毒物質を速やかに体外に排出させる。また余分な糖や脂質などを吸収しにくくするなど、食物繊維のような作用を示す。

このような直接的な効果だけでなく、吸収した水分により排便がスムーズになるなどの効果も有している。

【0014】

さらにセリシンはカルシウムとの結合能を有しており、カルシウム吸収を促進することも見出した。胃などで消化されにくいセリシンは、カルシウムと結合したまま腸内に到達し、そこでカルシウムが吸収されるのを助ける働きをするのではないかと考えられる。

【0015】

このセリシンは天然物由来であるため人体への安全性が高く、一般食品、一般飲料、さらには健康食品、特定保険用食品などの特別用途食品、その他経口摂取する適宜のもの（これらを本発明では飲食品と総称する）に添加して用いることができ、日常の食生活において無理なく摂取可能である。またカルシウムとともに配合してもよい。さらに水に可溶であるため、飲食品に添加しやすく様々な形状とすることができる。

【0016】

健康補助剤として用いる場合もその形状は特に制限はなく、例えば粉末状、溶液状、ゲル状、スティック状、顆粒状、カプセル状、錠剤で用いる。

摂取量も無毒性故特に制限はなく、通常1日の摂取量は1～30g程度である。

【0017】

【実施例】

次に実施例により本発明を例証する。

〔製造例1〕 セリシン粉体の製造

繭1kgを水50L（リットル）中で95℃にて2時間処理し、セリシンを抽出した。得られた抽出液を平均孔径0.2μmのフィルターで濾過し、凝集物を除去した後、濾液を逆浸透膜により脱塩し、濃度0.2%の無色透明のセリシン水溶液を得た。この水溶液をエバポレーターを用いてセリシン濃度約2%にまで濃縮した後、凍結乾燥を行って、純度95%以上、平均分子量100,000のセリシン粉体（以下セリシンH）100gを得た。

【0018】

〔製造例2〕 セリシン加水分解物粉体の製造

繭 1 kg を 0.2%炭酸ナトリウム水 (pH 11~12) 50 L 中で 95℃ にて 2 時間処理し、セリシン加水分解物を抽出した。得られた抽出液を平均孔径 0.2 μm のフィルターで濾過し、凝集物を除去した後、濾液を逆浸透膜により脱塩し、濃度 0.2% の無色透明のセリシン加水分解物抽出液を得た。この抽出液をエバポレーターを用いてセリシン濃度約 2% にまで濃縮した後、凍結乾燥を行って、純度 90% 以上、平均分子量 20,000 のセリシン加水分解物粉体 (以下セリシン L) 100 g を得た。

【0019】

〔試験例1〕 消化性試験

消化試験の試料としてセリシン L またはカゼインを用い、各試料濃度が 0.5% (pH 2.0) 溶液になるように塩酸を用いて調製し、蒸留水で 100 ml に合わせた。胃の消化酵素であるペプシン (シグマ社) 5 mg 試料溶液に加え、37℃ で 24 時間インキュベートし、適時にサンプリングを行った。インキュベート終了後、試料溶液 100 ml を 0.1% (pH 8.5) になるよう炭酸水素ナトリウムを用いて調製した。その後、十二指腸の消化酵素であるパンクレアチン (シグマ社) を 2 mg 加え 37℃ で 24 時間インキュベートを行った。

ペプチドの濃度測定は TNBS (2, 4, 6-トリニトロベンゼンスルホン酸) 法を用いて行った。サンプリングは全て 0.5 ml を採取し、30% TCA (トリクロロ酢酸) を 0.1 ml 加え、遠心分離後、上清 100 μl に 7% 炭酸水素ナトリウムを 3 ml、0.1% TNBS を 2 ml 加えて、37℃ で 2 時間加温し、420 nm の吸光度を測定した。

結果を図 1、図 2 に示した。本試験では体内での消化酵素であるペプシンやパンクレアチンに対する影響を試験管内で確認した。TNBS 法はタンパク質のアミノ末端と反応し、消化酵素で分解され易いほど、ペプチドが多く存在するため TNBS 試薬との反応性が高まる。つまり値が高いほど消化酵素に対して分解されやすいことになる。カゼインに比べてセリシンはペプシン、パンクレアチンのいずれの消化酵素でも難消化性であることが確認された。

【0020】

〔試験例2〕消化管輸送能試験

実験動物として、5週令の雄ICR系マウスを用いた。1群当たり10匹とし室温を $24 \pm 1^{\circ}\text{C}$ に保ち、12時間ごとの明暗交替（8:00～20:00は明、20:00～翌8:00は暗）の環境下で飼育を行った。予備飼育として2週間、市販の固形試料（MF、オリエンタル酵母（株））を与えた。試験前日はマウスを終夜絶食させた後、体重がほぼ等しくなるように各10匹ずつ2群に選別し、スクロース（投与量： 1 g/kg ）と、セリシンH（投与量： 2 g/kg ）またはカゼイン（コントロール、投与量： 2 g/kg ）を経口投与した。同時に胃排出のマーカースとしてプロムチモールブルーナトリウム（BTB）を経口投与した（投与量：0.3%溶液を1匹当たり0.35ml）。30分後に動物を断頭後、胃及び腸管を摘出した。この間の糞は全量を採取して、胃及び腸管の内容物及び糞中のBTBをアルカリ性エタノールで抽出、定量し胃内貯留率を求めた。なお有意差の判定にはStudentのt-検定を用いた。

結果を表1に示した。セリシンはカゼインに比べて胃内滞留率が低く、このことからセリシンの食物の胃排出に及ぼす作用が強いことが示唆された。

【0021】

【表1】

表1

被験物質	胃内滞留率（%）
コントロール	35.6 ± 4.0
セリシン	$25.1 \pm 3.1^*$

(* $p < 0.01$)

【0022】

〔試験例3〕胃排出試験

試験例1と同様の飼育条件で飼育したマウスを試験前日、終夜絶食させた後、1時間摂食させ摂餌量がほぼ一定の動物を選別し、1群8匹として2群に分け実験に用いた。消化管輸送能のマーカースとしてBTBを試験例1と同様に投与し、

同時にセリシンH（投与量：2 g / k g）またはカゼイン（コントロール、投与量：2 g / k g）を経口投与した。投与後25時間まで経時的に糞を採取した。この間、6及び23時間後に各1時間ずつ摂食させた。糞のBTB排泄量を測定した後、24時間減圧乾燥後、糞乾燥重量を測定した。なお有意差の判定にはStudentのt-検定を用いた。

【0023】

その結果、セリシン群は糞重量がカゼイン群に比べて有意に増加していた（図3）。糞の性状はコントロール群に比べてやや大きく、柔らかめであったが、水様便、粘液便などの下痢症状は見られなかった。さらにBTB排泄率もセリシン群はコントロール群に比べて大きく、セリシンの消化管輸送速度を高める効果を確認した（図4）。

【0024】

〔試験例4〕便秘改善効果試験

実験動物として3週令の雄Sprague-Dawley系ラット（日本LSC（株））を用い、1群13匹とした。1匹ずつ金属ケージに入れ、室温を24±1℃に保ち、12時間ごとの明暗交替（8：00～20：00は明、20：00～翌8：00は暗）の環境下で飼育を行った。予備飼育として2週間、市販の固形試料（MF、オリエンタル酵母（株））を与えた後、セリシンL群、対照群の2群に分け、実験食（表2）で8日間飼育を行った。なお1群は13匹とし、食事時間は全て14：00～17：00に限定した。飼育開始から7日目の17：00にアトロピン塩酸塩（0.5 mg / k g weight）を腹腔内注射により投与した。糞は実験食開始から1日目と7日目に食事終了後6時間（17：00～23：00）を採取し、減圧乾燥後、乾燥重量とした。なお有意差の判定にはDuncanの多重比較検定を用いた。

ヒトの便秘の多くは機能性便秘である。これは腸管平滑筋が副交感神経からアセチルコリンの遊離が減少することで、消化管運動や肛門機能を抑制した結果生じる便秘である。実験に用いたアトロピンはナス科のベラドンナから得られるアルカロイドに由来し、副交感神経遮断薬として用いられる為、アセチルコリン及びアセチルコリン様薬物の可逆的拮抗物質として機能性便秘を誘導する。

表 3 の結果より、セリシンはアトロピン投与によって低下した消化管機能の改善が認められたことから、セリシンの便秘改善効果を確認した。

【 0 0 2 5 】

【表 2】

表 2		
	対 照 群	セリシン L 群
カゼイン	2 5 . 0	2 0 . 0
セリシン L		5 . 0
L - シスチン	0 . 1	0 . 1
コーン油	1 0 . 0	1 0 . 0
塩混合	3 . 5	3 . 5
ビタミン混合	1 . 0	1 . 0
酒石酸コリン	0 . 2	0 . 2
セルロース	5 . 0	5 . 0
しょ糖	2 0 . 0	2 0 . 0
コーン澱粉	3 4 . 3	3 4 . 3

【 0 0 2 6 】

【表 3】

表 3

	アトロピン無し		アトロピン有り	
	対照群	セリシンL群	対照群	セリシンL群
摂食量 (g)	15±1	16±1	16±1	15±1
糞重量 (g)	0.59±0.06 ^{a,b}	0.78±0.11 ^a	0.32±0.08 ^b	0.71±0.12 ^a
乾燥糞重量 (g)	0.46±0.05 ^{a,b}	0.51±0.05 ^a	0.21±0.06 ^b	0.42±0.06 ^{a,b}
水分含量 (%)	23±2 ^b	39±3 ^a	24±3 ^b	36±3 ^a

(p < 0. 0 5)

【0 0 2 7】

〔試験例 5〕 体重抑制効果試験

実験動物として5週令の雄ICR系マウス（日本LSC（株））を用いた。1群12匹とし、表4に示す飼料及び水を自由摂取させ、室温を $24 \pm 1^{\circ}\text{C}$ に保ち、12時間ごとの明暗交替の環境下で8週間飼育を行った。試験終了後マウスを屠殺、解剖し、体重および腎周囲脂肪重量を測定した。さらに血液から常法により血清を得、トリグリセライド測定キット（トリグリセライド G-テストワコー 和光純薬工業（株））を用いて血清中のトリグリセライド濃度を測定した。なお有意差の判定にはDuncanの多重比較検定を用いた。

【0028】

結果を図5、6、7に示した。対照群に比べてセリシン群は体重の抑制が確認された。さらにセリシン群では体重当たりの腎周囲脂肪量も抑制し、血清中のトリグリセライド濃度も低下したことから、セリシンは脂肪の蓄積を抑制していることが確認された。なおこの試験では食事摂取量には有意差が見られなかった。

【0029】

【表4】

表4

	対 照 群	セリシン1%	セリシン3%	セリシン5%
カゼイン	25.0	20.0	20.0	20.0
セリシンH	—	1.0	3.0	5.0
L-シスチン	0.1	0.1	0.1	0.1
コーン油	10.0	10.0	10.0	10.0
塩混合	3.5	3.5	3.5	3.5
ビタミン混合	1.0	1.0	1.0	1.0
酒石酸コリン	0.2	0.2	0.2	0.2
セルロース	5.0	5.0	5.0	5.0
しょ糖	20.0	20.0	20.0	20.0
コーン澱粉	34.3	34.3	34.3	34.3
炭酸カルシウム	0.8	0.8	0.8	0.8

【0030】

〔試験例 6〕カルシウム吸収促進効果試験

実験動物として 8 週令の雄 Sprague-Dawley 系ラット（日本 L S C（株））を用いた。1 群 8 匹とし、先述した表 4 に示す飼料及び水を自由摂取させ、室温を $24 \pm 1^{\circ}\text{C}$ に保ち、12 時間ごとの明暗交替の環境下で飼育を行った。飼育開始から 10 日後に各ラットを代謝ゲージに入れ、72 時間の試料摂取量と糞排泄量求め、糞中に排泄されたカルシウム量を原子吸光光度計（Z-8000 日立（株））を用いて測定し、糞中のカルシウム含有率を求めた。さらに見かけのカルシウム吸収率は以下の式で求めた。

$$\text{Ca 吸収率 (\%)} = [(\text{Ca 摂取量} - \text{糞中 Ca 量}) / \text{Ca 摂取量}] \times 100$$

その結果を（図 8）に示す。カルシウム摂取量は全群において有意差はなかった（データは示さず）にも関わらず、セリシンは対照群に比べ、濃度依存的にカルシウムの吸収を促進していることが認められた。

【0031】

【発明の効果】

セリシンは難消化性であり、胃や腸の働きを活性化させ、胃や腸内で余分な水分やコレステロール、有害物質、中性脂肪などを吸収しにくくし、ダイエットや便秘解消に大いに役立つ。また、カルシウムと結合する性質を持つため、腸内でのカルシウム吸収の促進剤としても有用である。

【0032】

また天然物由来のタンパク質としての特性を持ち、生体内では高い安全性を有するので、たとえ大量に摂取したとしても無害である。さらに本発明品は無味、無臭であるため食品に添加した場合、官能特性に影響を与えない。従って、日常の食生活において無理なく摂取可能であり、その効果はいっそう顕著なものとなりうる。

【0033】

更に、本発明の有効成分であるセリシンは蕁又は生糸の溶媒抽出物から、容易にしかも単一のタンパク質としては高い純度で抽出できるため、安価に得られ、しかも水溶液の色が無色透明であるので、消色する必要が無く、複雑な処理工程を必要としないという大きな利点がある。

【図面の簡単な説明】

【図 1】

消化試験（対ペプシン）の結果を示すグラフ。

【図 2】

消化試験（対パンクレアチン）の結果を示すグラフ。

【図 3】

消化管輸送能を糞量で測定した結果を示すグラフ。

【図 4】

消化管輸送能を B T B 排泄率で測定した結果を示すグラフ。

【図 5】

体重の抑制結果を示すグラフ。

【図 6】

腎周囲脂肪量の抑制結果を示すグラフ。

【図 7】

血清中のトリグリセライド濃度低下効果を示すグラフ。

【図 8】

カルシウム吸収促進効果を示すグラフ。

【書類名】 図面

【図 1】

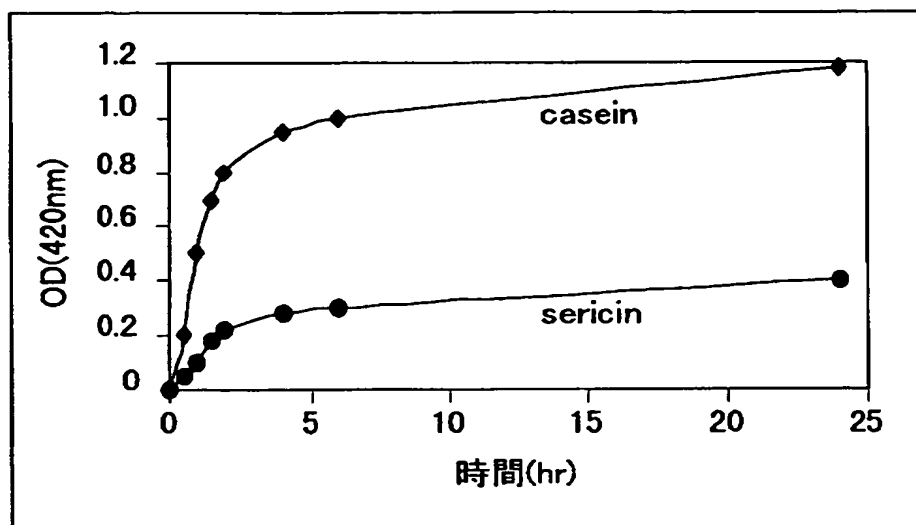


図 1

【図 2】

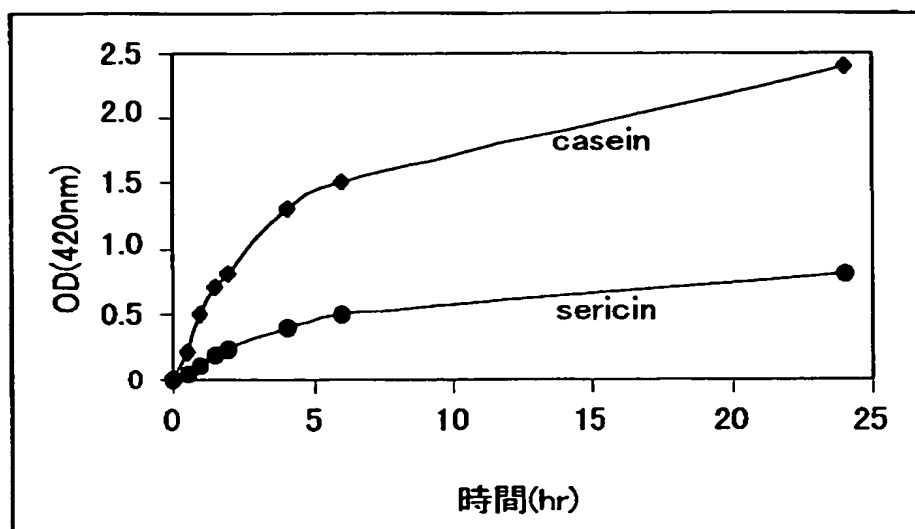
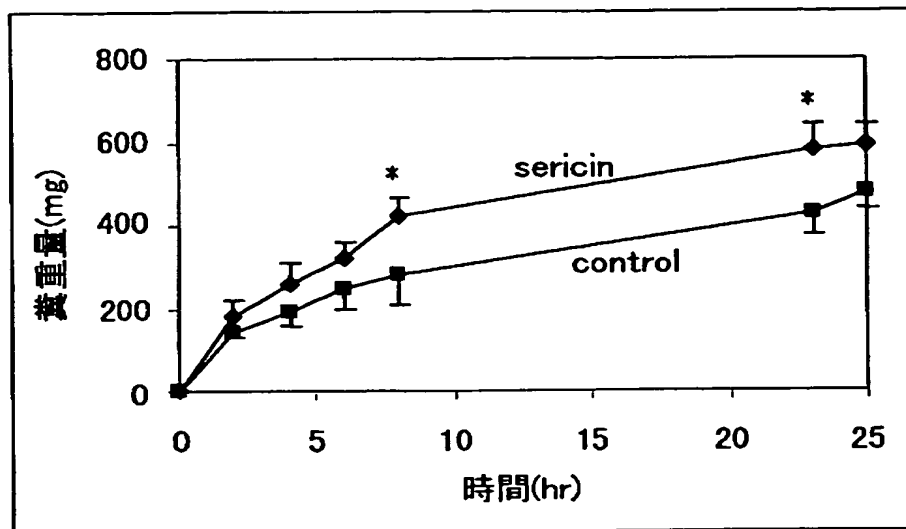


図2

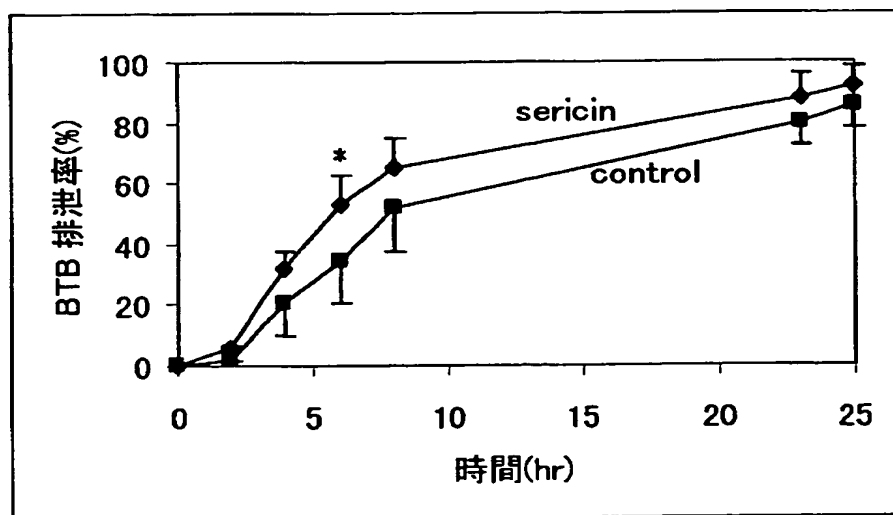
【図3】



(* : $p < 0.05$)

図3

【図4】



(* : $p < 0.05$)

図4

【図 5】

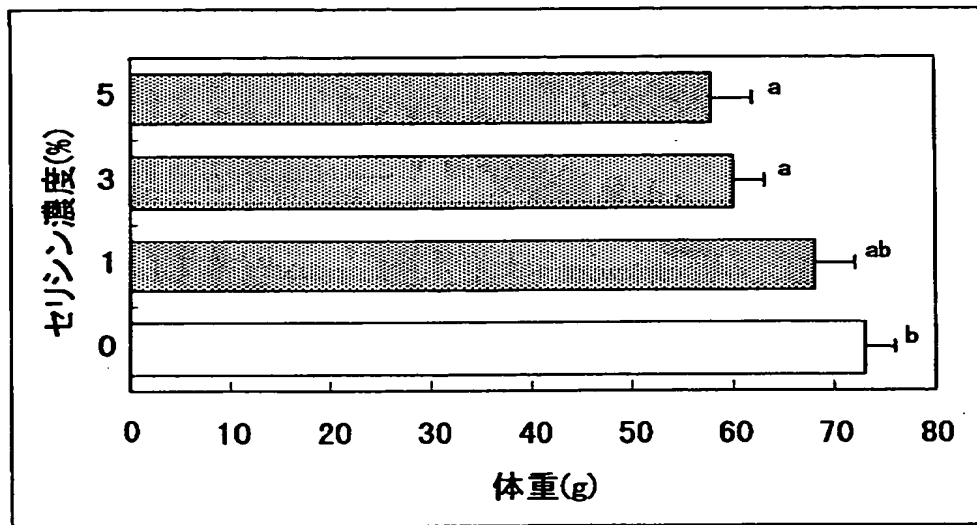


図5

($p < 0.05$)

【図 6】

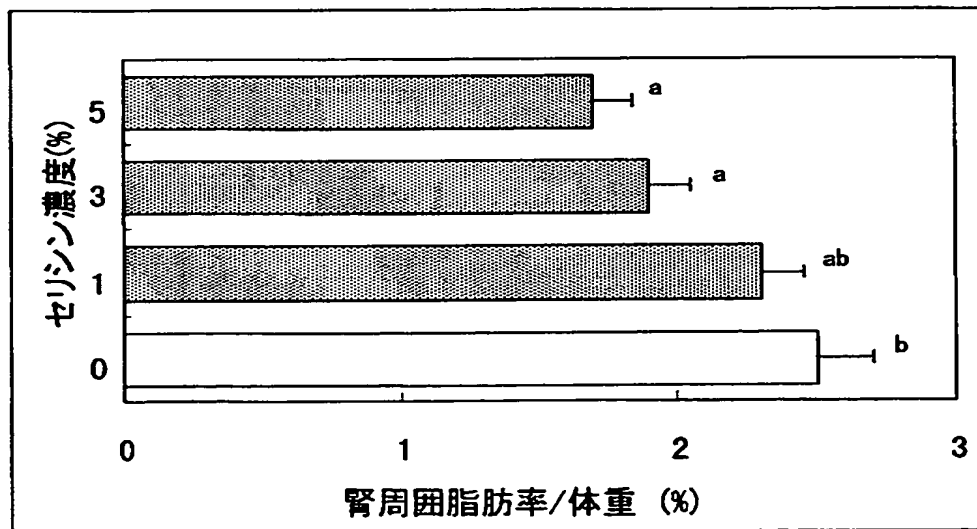


図6

($p < 0.05$)

【図 7】

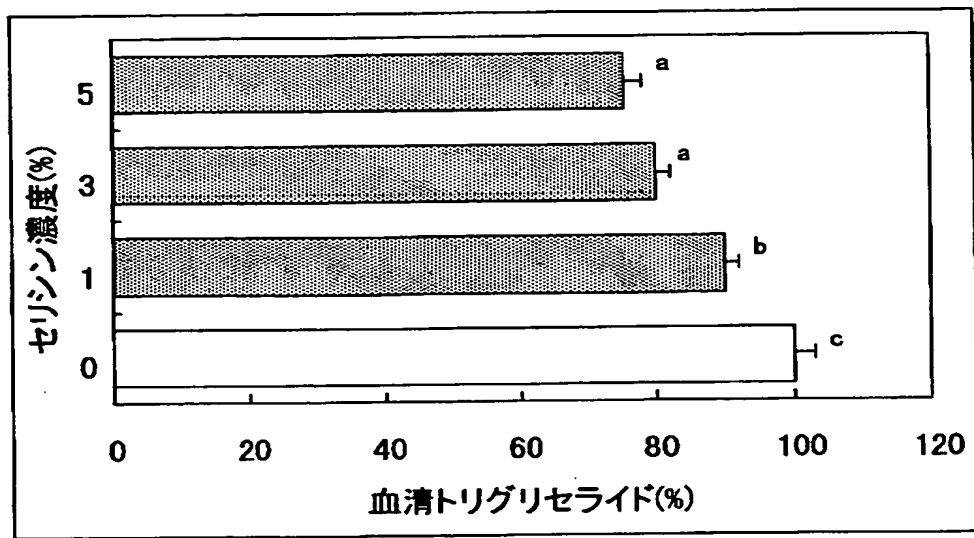


図 7

($p < 0.05$)

【図 8】

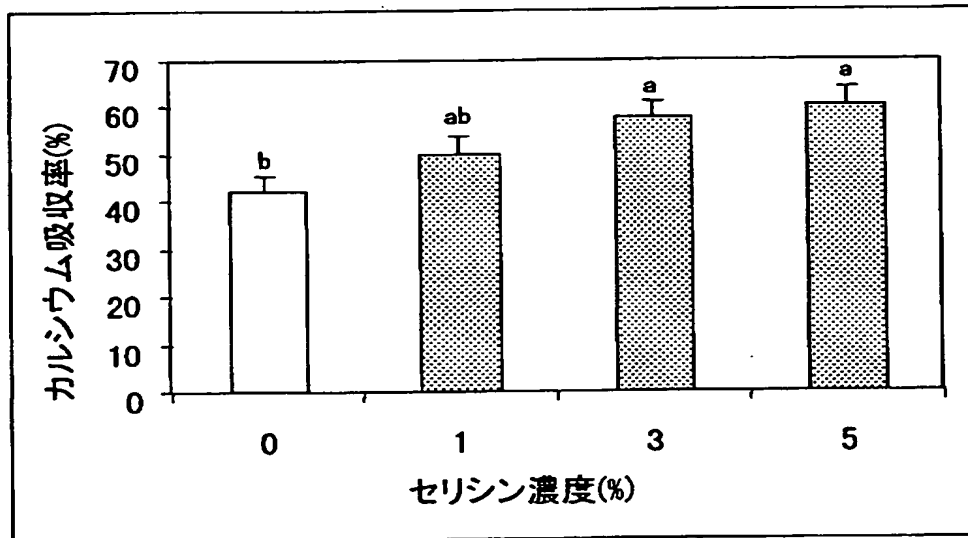


図 8

($p < 0.05$)

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 ダイエット効果・便秘解消に加えてカルシウム吸収促進作用を有する新規な難消化性飲食品添加物及び健康補助剤品を提供する。

【解決手段】 セリシン又はその加水分解物を飲食品添加物又は健康補助剤として用いる。

【選択図】 なし

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [0 0 0 1 0 7 9 0 7]

1. 変更年月日	1 9 9 0 年 8 月 3 0 日
[変更理由]	新規登録
住 所	福井県福井市毛矢 1 丁目 1 0 番 1 号
氏 名	セーレン株式会社



11

12